

Modyfikacja przepuszczalności błon mitochondrialnych w mechanizmie hartowania przez niedokrwienie. Rola receptorów opioidowych

prof. dr hab. n. med. Aldona Dembińska-Kieć

Zakład Biochemii Klinicznej, Katedra Biochemii Klinicznej Collegium Medicum UJ, Kraków



Zredukowany przepływ wieńcowy i obniżenie dostawy tlenu i substratów (glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych) powoduje w niedokrwieniu mięśnia serca spadek aktywności metabolicznej mitochondriów, w pierwszym okresie akumulację mleczanów (wynik nasilonej glikolizy), spadek wewnątrzkomórkowego pH ($[pH_i]$), a wzrost poziomu jonów sodu ($[Na^+]_i$), wapnia ($[Ca^{2+}]_i$), oraz fosforanów (P_i). Przedłużenie czasu niedokrwienia i dalszy spadek pH, hamuje glikolizę i generację ATP, blokując zależną od ATP funkcję kanałów jonowych (np. Na^+/K^+ -ATP-azy), przepuszczalność błon komórkowych (Na^+/H^+ -, Na^+/Ca^{2+} -wymienników) a także siateczki endoplazmatycznej (SERCA-2A) czy mitochondriów (mitochondrialny zależny od ATP kanał K^+ (mK_{ATP}) należący do systemu MPTP (*mitochondrial permeability transition pore*). Prowadzi to do wzrostu $[Ca^{2+}]_i$ i aktywacji enzymów cytoplazmy (zwłaszcza proteaz, fosfolipaz, nukleaz), aktywacji szlaków przewodnictwa wewnątrzkomórkowego, do początku nieodwracalnych zmian funkcjonalnych i apoptozy/nekrozy nasilonej przez reperfuzję tkanki i generację wolnych rodników (ROS).

Chociaż spadek kontroli nad mobilizacją wewnątrzkomórkowego wapnia jest krytycznym zjawiskiem dla rozwoju zmian zwanych *ogłuszeniem* mięśnia serca, to kluczową rolę w inicjacji nieodwracalnych zmian odgrywa generacja ROS głównie w mitochondriach, co wynika z rozprężnięcia łańcucha oddechowego (oksydatywnej fosforylacji substratów), *ucieczki elektronów* – to jest generacji ROS przez *ubi(semi)quinon*. Proces generacji wolnych rodników jest dodatkowo potęgowany przez aktywację oksydazy ksantynowej uaktywnionej przez obecność Ca^{2+} i proteaz i rosnące stężenie ksantyny powstającej w wyniku gwałtownego katabolizmu ATP do adenozy. Modyfikacja grup tiolowych białek enzymów (kompleksu I i kompleksu III łańcucha oddechowego), ATP-az, dehydrogenazy NADH, translokazy nukleotydów adeninowych (ANT) i innych pomp jono-

wych komórki przez ROS, jak i indukcja przez rodniki peroksydacji lipidów – składników fosfolipidów błon komórkowych, czy aktywacja fosfolipaz (np. PLA_2 , PLC) stoją u biochemicznych podstaw tych zmian. Upośledzenie integralności błony mitochondrialnej przez upośledzenie funkcji MPTP i wypływ cytochromu c (cysteinowa proteaza) z mitochondrium do cytoplazmy zapoczątkowuje apoptozę komórki i jej śmierć.

W ostatnich latach podkreśla się negatywną (hamowanie oksydazy cytochromowej) rolę tlenku azotu (NO) generowanego w mitochondriach w okresie ischemii/reperfuzji tkanki. W mitochondriach kardiomiocytów stwierdzono bowiem obecność wszystkich rodzajów syntaz: NOS1 NOS2 i NOS3. W prawidłowych warunkach NO przez cGMP ma zwiększać liczbę mitochondriów w komórce, co jest zjawiskiem korzystnym dla długotrwałej adaptacji mięśnia serca do wysiłku. Natomiast indukcja generacji NO w mitochondriach (np. przez $TNF-\alpha$ lub inne cytokiny) w ostrym niedotlenieniu zwiększa niekorzystny, hamujący wpływ NO na oksydazę cytochromową i wydolność energetyczną – syntezę ATP, co przyspiesza utratę funkcji komórki.

W 1986 r. Murry z wsp. opisał ochronne dla serca zjawisko nazwane *ischaemic preconditioning* (IPC) w którym wykazano, że krótki okres zamknięcia światła tętnicy wieńcowej przed przedłużonym okresem ischemii, opóźnia okres wystąpienia nieodwracalnych zmian w mięśniu serca i zwalnia tempo spadku ATP w komórkach. Jak wykazano, 2–3 krótkie (3–5 min) okresy ischemii (z czasowym powrotem przepływu między nimi) ochraniają mięsień serca przed powyżej opisanymi w skrócie niekorzystnymi zjawiskami w następnych 1–2 godz. (tzw. pierwsze, wczesne *okno* adaptacji), oraz w okresie około 24 godz. od przejściowej ischemii (odległy, drugi okres ochronny, tzw. drugie *okno* protekcji). Sugeruje się, że ochrona funkcji MPTP (hamowanie przepuszczalności błony mitochondrialnej) czyli ochrona integralności błony mitochondrialnej mimo spadku ATP może być istotnym zjawiskiem decydującym o losach komórki. Dlatego też substraty metaboliczne (glu-

koza, szczawiany, aminokwasy), ale i cyklosporyna A (choć w wąskim zakresie dawek) czy antyoksydacyjnie działające związki, jak np. propofol i karwedilol, poprawiające szczelność błon mitochondrialnych i wykazują działanie osłaniające na miokardium w niedokrwieniu. Co ważniejsze, stwierdzono również, że krótka aktywacja mK_{ATP} i krótki napływ jonów potasu do mitochondriów powoduje ich *funkcjonalny* przejściowy obrzek (nawet o 10% objętości) i aktywację oksydatywnej fosforylacji promującej syntezę ATP.

Sugeruje się więc, że mechanizmem komórkowym odpowiedzialnym za zjawisko IPC jest aktywacja kinazy białkowej C (PKC) przez substancje uwalniane miejscowo podczas krótkiej ischemii: adenozyne, bradykininy, noradrenaliny czy endorfiny. Aktywacja PKC wydaje się odgrywać kluczową rolę w regulacji aktywności nie tylko kanału K_{ATP} sarkoplazmy, ale właśnie mitochondrialnego mK_{ATP} , decydując o indukcji zjawisk ochronnych: aktywacji metabolizmu i generacji ATP (okres wczesny IPC) oraz indukcji ekspresji genów białek antyapoptotycznych (okres późny IPC) przez niewielką, przejściową indukcję ROS. Endorfiny oraz selektywni agoniści opioidowych receptorów δ_1 (np. pentazocyna) wykazują skuteczność w IPC prawdopodobnie właśnie przez przejściową aktywację związanych z tymi receptorami

białek $G_{i/o}$. Według ostatnio preferowanych poglądów przejściowa aktywacja PKC i kanału mK_{ATP} ma być podstawą mechanizmów cytoprotekcji w fazie wczesnej i późnej IPC. Dojrzałe kardiomiocyty wykazują ekspresję związanych z białkami G_o i G_i receptorów δ i μ , (ale nie κ -, które są sprzęgnięte w sercu raczej z funkcją kanałów wapnia). Dowodem na to ma być fakt, że selektywne i nieselektywne inhibitory PKC (np. chelerytryna), inhibitory kinazy tyrozynowej (genisteina) czy selektywne blokery receptorów opioidowych δ_1 (BNTX) znoszą efekt IPC indukowanej przez opioidy.

Leki z grupy agonistów receptorów δ_1 są więc kandydatami do nowej grupy leków w terapii choroby niedokrwiennej serca zarówno przez działanie przeciwbólowe, jak i korzystny wpływ na przejściową aktywację mK_{ATP} w inicjacji IPC.

Piśmiennictwo

1. Suleiman MS, Halestrap AP, Griffiths EJ. Mitochondria: a target for myocardial protection. *Pharmacol Ther* 2001; 89: 29-46.
2. Schultz JE, Gross GJ. Opioids and cardioprotection. *Pharmacol Ther* 2001; 89: 123-37.
3. Schulz R, Rassaf T, Massion PB, et al. Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis. *Pharmacol Ther* 2005; 108: 225-56.